

Foto: Ramiro Vilela de Andrade



Boas Práticas na Manutenção de Germoplasma e Variedades Crioulas de Milho

Flavia França Teixeira¹
Breno Oliveira de Souza²
Ramiro Vilela de Andrade³
Lilian Padilha⁴

Introdução

A utilização intensa de materiais melhorados é um ponto essencial ao sucesso da moderna agricultura. Por outro lado, isto contribui para que os materiais disponíveis no mercado apresentem, cada vez mais, reduzida variabilidade genética. Uma das maneiras de garantir a proteção contra a perda de variabilidade é a conservação de materiais em bancos de germoplasma. Banco de germoplasma é o local onde se armazena o material genético das espécies de interesse com origens geográfica e ambiental variadas e que constitui a matéria-prima para programas de pesquisa (Ramalho et al., 1989).

Dentre as plantas cultivadas, o milho é uma das que apresentam maior variabilidade genética. Existem atualmente cerca de 300 raças identificadas e, dentro de cada raça, milhares de variedades que apresentam

grande variabilidade genética e são cultivadas em diferentes condições ambientais.

Além da ampla variabilidade genética existente, o milho é a espécie cultivada que atingiu o mais elevado nível de domesticação. No Brasil, a cultura do milho está difundida em todos os Estados da Federação, os quais, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2004), cultivam um total de nove milhões de hectares, com uma expectativa de produção superior a 35 milhões de toneladas em 2005. Os bancos de germoplasma foram criados com o objetivo de preservação da variabilidade genética de várias espécies. Em 1952, a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ realizou um estudo das raças de milho existentes no Brasil, tendo sido coletadas cerca de 1.500 variedades crioulas e indígenas. Esse trabalho foi continuado pela Embrapa Milho e Sorgo e Embrapa Recursos Genéticos e

¹ Eng.-Agr., Doutora. Embrapa Milho e Sorgo. Rod. MG 424 Km 45 Caixa Postal 151 CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG. flavia@cnpms.embrapa.br

² Biólogo, M. Sc., Bolsista do CNPq.

³ Eng.-Agr., M. Sc. Embrapa Milho e Sorgo.

⁴ Eng.-Agr., Doutora. Embrapa Milho e Sorgo.

Biotecnologia. Mais de 3.000 amostras foram armazenadas no banco de germoplasma do departamento de genética da ESALQ, plantadas, estudadas e caracterizadas morfológica e agronomicamente (Parteniani *et al.*, 2000).

O banco ativo de germoplasma de milho (BAG milho) é mantido na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, desde a década de 70. Essa coleção contém 3.663 acessos de milho e sete acessos de parentes próximos do milho (Andrade *et al.*, 2001). Esses acessos foram coletados em vários locais do país, recebidos ou trocados com instituições que mantêm germoplasma de milho e também com produtores de milho. No início dos anos 90, foram incorporados ao BAG milho 1.371 acessos, por meio de repatriamento do CIMMYT (Centro Internacional de Pesquisa de Milho e Trigo) e periodicamente são recebidos e incorporados ao BAG milho acessos de novas variedades de milho de diferentes produtores rurais.

A preservação da variabilidade ou a conservação dos recursos genéticos é, hoje, considerada uma das questões mais importantes para a sobrevivência da humanidade (Ramalho *et al.* 1989). Para isto, devem ser adotadas práticas de conservação e de cultivo adequadas, que visem a boa conservação desses recursos. Esta publicação sugere boas práticas de conservação e manutenção de acessos em bancos de germoplasma e de variedades crioulas de milho.

Formas de manutenção de germoplasma

A conservação de germoplasma pode ser realizada *ex situ*, em que cada amostra do material genético, denominada acesso, é mantida fora do local de coleta. Para se conservar *ex situ*, deve-se ter o cuidado de que esses acessos armazenados representem, se não toda, a maior parte da variabilidade genética da espécie. Para isto, são necessários coletas e intercâmbios de materiais provenientes de diferentes regiões agroclimáticas.

Os genótipos podem também ser mantidos como coleções vivas *in situ*, se for mantida no seu local de origem ou *on farm*, caso os agricultores mantenham variedades das espécies nas propriedades, procurando

conservar suas características, ou, então, selecionando-as, tentando melhorá-las safra a safra, para obter populações mais adaptadas às suas condições de cultivo.

Atividades realizadas no banco de germoplasma

A manutenção de acessos de milho em banco de germoplasma engloba uma série de atividades que são realizadas sistematicamente, entre elas: introdução, intercâmbio de materiais, monitoração, regeneração e/ou multiplicação, caracterização/avaliação e informatização do cadastro de dados (Andrade *et al.* 2001). Recomendações para essas atividades são descritas a seguir.

A introdução é a entrada de um acesso em um banco de germoplasma e pode ser feita por coletas e/ou intercâmbio de amostras com outras instituições que mantêm germoplasma. Em um banco ativo de germoplasma, são feitas constantes introduções, com o objetivo de formar o acervo mais representativo da variabilidade da cultura, sem repetições.

O intercâmbio é realizado mediante a troca de materiais entre bancos mantenedores de germoplasma, com o objetivo de ampliar a variabilidade genética disponível a programas de pesquisa. A prática de intercâmbio é regulamentada e deve obedecer à medida provisória 20186/16/2001.

A necessidade de regeneração é verificada pela monitoração das sementes que estão armazenadas no banco, por meio dos testes de teor de água e viabilidade, que são realizados periodicamente. As atividades de regeneração/multiplicação recuperam acessos de milho que apresentam baixa viabilidade e/ou aqueles com menos de 5kg de sementes armazenadas. A reposição também pode ser realizada com a coleta adicional no local original.

Os acessos de milho devem ser regenerados/multiplicados sob condições de solo e de clima semelhantes aos do local de origem de cada acesso. Na regeneração/multiplicação dos acessos de milho deve-se utilizar um mínimo de 16 linhas no campo, com 5m de comprimento cada, sendo que o tamanho do

lote para regenerar/multiplicar deve ser de aproximadamente 100m² por acesso, com um mínimo de 300 plantas por lote. A regeneração/multiplicação de acessos de milho de variedades não adaptadas ao local deve ser realizada em casa de vegetação, com polinização controlada (Pardey *et al.*, 2004).

A caracterização e a avaliação dos acessos em um banco de germoplasma têm como objetivo ampliar o conhecimento a respeito da coleção, para viabilizar sua utilização em programas de pesquisa. A caracterização visa descrever cada acesso em relação a uma série de atributos constantes da lista de descritores no milho (IBPGR 1991); esses descritores tendem a ser caracteres de fácil mensuração, tais como cor e tipo de grão, altura de planta, número de dias para florescimento, número de folhas acima da espiga e formato da folha. Já a avaliação enfoca caracteres mais complexos, relacionados ao desempenho agrônomo e que muitas vezes necessitam ser observados em diversas condições ambientais. A tolerância a estresses bióticos e abióticos, estabilidade e adaptabilidade e capacidade combinatória são alguns caracteres freqüentemente considerados na avaliação de acessos do BAG Milho.

Em um banco de germoplasma, a manutenção e a disponibilidade das informações de cada acesso são primordiais para o uso eficiente da variabilidade genética disponível. É importante que as informações sejam armazenadas de forma segura, em meio digital e que tenham cópia de segurança.

Manutenção de germoplasma de milho

Armazenamento das sementes em bancos de germoplasma

Fatores como umidade relativa e temperatura são determinantes para a longevidade das sementes de milho. Durante o armazenamento, a prática de redução do teor de água das sementes, associada com temperaturas mais baixas, tem o objetivo de reduzir a atividade metabólica e o conseqüente consumo de reserva pela respiração, favorecendo, assim, a manutenção da viabilidade das sementes. Como as sementes entram em equilíbrio com a umidade relativa

do ar, uma maneira de manter o teor de água mais baixo é o armazenamento em condições de baixa umidade relativa ou utilizar embalagens impermeáveis. Outro ponto a ser considerado na conservação de sementes em bancos de germoplasma é o tempo de armazenamento. Paterniani (1988) sugeriu que o armazenamento a médio prazo seja de 20 a 30 anos e que o de longo prazo seja de aproximadamente 100 anos. No primeiro caso, as sementes de milho devem ser armazenadas em câmaras frias e secas, com temperaturas que variam entre 0-15° C e 15-30%. Para o armazenamento a longo prazo, as sementes de milho devem ter o teor de água reduzido para 2 a 5% e serem armazenadas em embalagens herméticas, a uma temperatura de -20° C. Normalmente, são mantidos no BAG Milho de 2 a 5kg de sementes, que podem ser acondicionadas em recipientes de algodão, papel, plástico ou metal, sobre prateleiras de preferência móveis, para facilitar seu manuseio (Taba, 2003). É importante observar que, antes do armazenamento, as sementes devem ser expurgadas, para a redução do nível de infestação por insetos.

Durante o armazenamento das sementes de milho, a médio prazo, deve ser realizado o acompanhamento de sua viabilidade, a cada quatro ou cinco anos. Para o armazenamento a longo prazo, esse período pode ser estendido para dez anos ou mais. Nessa época, sementes com valores de germinação inferiores a 80% de germinação inicial, são submetidas à regeneração, no campo. É importante que sejam feitas vistorias constantes das condições de limpeza do banco de germoplasma, bem como a regulação correta da câmara de armazenamento.

Documentação

Os dados referentes ao banco de germoplasma devem ser organizados e mantidos em meio digital e com cópia de segurança. Normalmente, existem quatro conjuntos de dados: de passaporte, de manutenção, de caracterização/avaliação e dados referentes a intercâmbios.

Os dados de passaporte englobam informações obtidas na coleta, tais como: data, tipo de vegetação, condições de solo, coordenadas geográficas do local de

coleta, nome da propriedade e do produtor, nome da variedade e forma de utilização.

No conjunto de dados de manutenção devem ser registradas informações sobre: data e local da última regeneração/multiplicação, quantidade de sementes em estoque, local de armazenagem na câmara, porcentagem de germinação, data do último teste de germinação, condições de regeneração (solo, clima), porcentagem de umidade da semente e número de vezes que o acesso foi regenerado/multiplicado.

Nos dados da caracterização/avaliação, são anotadas informações relacionadas às características morfoagronômicas, tais como: número de dias para florescimentos masculino e feminino, posição da espiga, sanidade da espiga, tipo de espiga, arranjos de grãos, cor e tipo do endosperma, número de ramificações de pendão, altura de planta, porcentagens de plantas quebradas e acamadas, número de folhas acima da espiga, número total de folhas, diâmetro de colmo, número de espigas por planta e comprimento de espiga, diâmetro de espiga, número de fileiras na espiga, número de grãos por fileira, diâmetro de sabugo e peso de 1000 sementes. Já nos dados de avaliação, são consideradas algumas das seguintes características: peso de espigas e de grãos, reação a estresses bióticos e abióticos e teores de óleo e de aminoácidos e capacidade combinatória. Na maioria dos casos, é necessário que a avaliação seja efetuada em diversas condições ambientais.

Quanto aos dados referentes ao intercâmbio, deve ser mantido o controle de registros das sementes enviadas a produtores e instituições, com a finalidade de documentar a saída e a entrada dos acessos de milho nas coleções de germoplasma.

Manutenção de variedades crioulas de milho

As variedades crioulas de milho, também denominadas variedades locais ou tradicionais, são variedades cultivadas por comunidades, como povos indígenas e agricultores familiares. Essas variedades normalmente são submetidas à seleção para caracteres relacionados à produção a cada safra, proporcionando bom

desempenho nas condições ambientais em que são cultivadas.

Desta forma, são obtidas plantas adaptadas às condições locais da propriedade e capazes de tolerar variações ambientais. Outro aspecto importante consiste na maior autonomia do agricultor em poder produzir sementes em sua propriedade, adquirindo maior independência do mercado de sementes.

A boa manutenção das variedades crioulas de milho nas propriedades deve considerar alguns aspectos que se referem à condução das variedades em campo e ao armazenamento das sementes de uma safra para outra.

Para o processo de condução das variedades em campo, que também é chamado de regeneração/multiplicação, podem ser adotados campos isolados no espaço ou no tempo, ou realizada a polinização controlada. Para o isolamento no tempo, as variedades crioulas podem ser multiplicadas com um mês de intervalo entre os plantios. Caso seja mais vantajoso o isolamento no espaço, as variedades podem ser plantadas isoladas de outros campos com milho por pelo menos 300m de distância entre os campos, para evitar contaminação com pólen de outras variedades de milho. No caso de se optar pela polinização artificial, deve ser seguido o esquema apresentado na Figura 1, com a polinização de, no mínimo, 150 plantas. Em todos os casos, os lotes deverão receber os tratos culturais necessários para o bom desenvolvimento da cultura.

Na Figura 2, é apresentado um esquema do procedimento para multiplicação a partir de lote de sementes (Figura 2a). Não se deve plantar um número reduzido de indivíduos por variedade, para evitar perdas na diversidade genética; por essa razão, devem ser utilizadas no mínimo 300 sementes em cada lote de multiplicação (Figura 2b). Opcionalmente, pode ser semeado um lote de multiplicação adicional (Figura 2c), que é uma repetição do lote de multiplicação, caso haja disponibilidade de recursos e/ou necessidade de maior número de sementes. Deve ser mantido um lote de mesmo tamanho do de multiplicação, que não é semeado, e sim guardado como reserva, a qual é



Figura 1. Etapas da polinização artificial

(A) Proteção da inflorescência feminina (boneca) - para evitar contaminação de pólen indesejável, a boneca deverá ser protegida com embalagem de plástico, antes da emissão do estilo-estigma (cabelos da boneca).

(B) e (C) Obtenção de pólen – na ocasião da emissão de pólen, o pendão deve ser coberto com saco de papel, para coleta do mesmo. Essa atividade deve ser realizada pela manhã, quando for observada a liberação de pólen pelas plantas.

(D) Polinização – após algumas horas da proteção do pendão, esse deve ser agitado, a fim de se obter maior quantidade de pólen. Assim que for obtido o pólen, ele deve ser levado a uma das bonecas protegidas que já tenham emitido cabelos. Deve, então, ser retirada a proteção da boneca e feita a polinização.

(E) Proteção da boneca polinizada – após a polinização, a boneca deve ser protegida com o saco utilizado para coletar o pólen, para evitar contaminação por outros polens indesejáveis e para que o pólen utilizado fique disponível. Essa proteção deve ser fixada e permanecer até o momento da colheita, como forma de identificação da polinização controlada.

utilizada no caso de perda do lote semeado (Figura 2d). Caso estejam disponíveis poucas sementes e, por essa razão, não seja possível semear no mínimo 300 plantas no lote de multiplicação, deve, então, ser utilizada a metade das sementes disponíveis e a outra metade deve permanecer guardada, como reserva para o caso de perda do lote plantado (Crossa *et al.*, 1994).

Após a colheita, devem ser separadas no mínimo 150 espigas saudáveis (Figura 2e) e, de cada espiga, o mesmo número de sementes. Essas sementes devem ser homogeneizadas e guardadas para a próxima multiplicação/regeneração, constituindo, assim, um novo lote para multiplicação, quando será repetido esse procedimento.

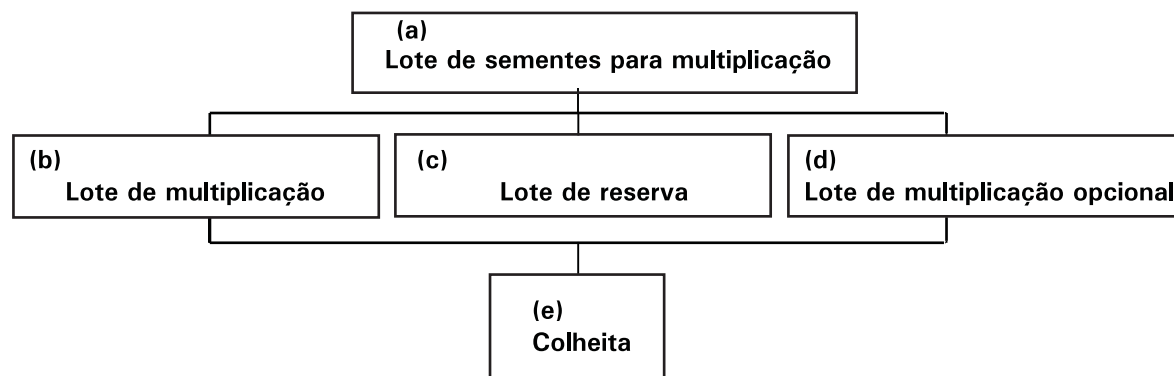


Figura 2. Esquema das atividades de regeneração/multiplicação para variedades de milho.

Armazenamento de sementes nas propriedades

O armazenamento é uma prática que permite a disponibilidade das sementes para o próximo cultivo e certos cuidados devem ser levados em consideração, para que as perdas na qualidade das sementes sejam reduzidas ao mínimo.

O primeiro ponto a ser considerado é a qualidade das sementes no início do armazenamento. Durante a produção, quando as sementes de milho atingem o completo desenvolvimento, ou seja, a maturidade fisiológica, elas já acumularam toda a reserva necessária para a germinação e o posterior estabelecimento da planta no campo. Nesse ponto, a qualidade da semente é máxima. É desejável que, após a maturidade fisiológica, a permanência das sementes no campo seja mínima, o suficiente para que seu teor de água seja reduzido para níveis que viabilizem a colheita. Dessa maneira, podem ser obtidas sementes de melhor qualidade, pois elas ficarão menos expostas aos riscos de ataque de pragas e a condições ambientais desfavoráveis.

O armazenamento do milho depende do nível de tecnologia adotado pelo produtor, podendo ser realizado a granel ou em espigas. Sementes produzidas em propriedades que adotam alto nível de tecnologia normalmente são armazenadas a granel ou embaladas. Elas podem ser acondicionadas em “big-bags” confeccionados em polipropileno, tecido ou material durável, cujo peso líquido poderá variar de 250 a 1.000 kg. Podem também ser embaladas em sacarias de papel multifoliado, juta ou propileno traçado

(Instrução Normativa 9/ 2005). Essas embalagens são permeáveis e as sementes devem apresentar um teor de água em torno de 12 a 13%.

Em pequenas propriedades, é comum reservar sementes das variedades para o próximo plantio. Geralmente são pequenos volumes, armazenados a granel ou em espigas, nos paióis.

Nessas propriedades, para o armazenamento a granel, podem ser utilizadas embalagens permeáveis, como sacos de papel ou algodão. Deve ser realizada uma limpeza do material a ser armazenado, eliminando restos de cultura, sementes quebradas ou atacadas por fungo. Como o teor de água da semente entrará em equilíbrio com a umidade relativa do ar, é importante que o armazenamento seja realizado em locais com temperaturas amenas e bem ventilados. Deve-se evitar colocar as sementes embaladas em contato direto com paredes, pisos etc. Por outro lado, alguns produtores, visando o armazenamento por um período maior, optam pelo acondicionamento das sementes em embalagens impermeáveis, tais como latas seladas com parafina, sacos de plástico, vidros, garrafas “pets”, etc. É importante frisar, que, nessas condições, o teor de água deve ser reduzido para valores inferiores a 10%, reduzindo, com isto, a respiração das sementes, que é responsável pela elevação da temperatura na massa de sementes e o consumo de reservas delas, fatores que provocam a rápida perda de viabilidade.

A conservação das espigas nos paióis deve considerar a proteção contra roedores, insetos e penetração de água das chuvas, bem como o adequado arejamento e

distanciamento do solo. Nessas condições, as sementes podem apresentar teor de água em torno de 18%, pois as instalações permitem que seja atingida a umidade de equilíbrio com o ambiente. Deve ser realizada uma seleção prévia de espigas, escolhendo-se aquelas com melhor empalhamento e sem ataque de pássaros e pragas.

Além da limpeza e arejamento do local do armazenamento das sementes e dos pontos citados anteriormente, atenção especial deve ser dada ao tratamento das sementes para o controle de pragas. O expurgo das sementes é feito com um inseticida conhecido como gastoxin, a base de fosfeto de alumínio, e deve ser realizado sempre que for identificada a presença de insetos como carunchos ou traças.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, R. V.; FILHO, I. A. P.; SANTOS, M. X.; FRANCISCO, R. S. S.; LEITE, C. E. P. Banco Ativo de Germoplasma de Milho. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE - SIRGEALC, 3.; REUNIÃO LATINO-AMERICANA DE ESPECIALISTAS EM ARACHIS, 3.; REUNIÃO LATINO-AMERICANA DE ESPECIALISTAS EM RECURSOS GENÉTICOS FLORESTAIS, 3., 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2001. p. 506-507
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 9, de 2 de julho de 2005. Normas para a produção, comercialização e utilização de sementes. publicada no Diário Oficial da União em 10/06/2005, seção 1, página 4.
- CROSSA, J.; TABA, S.; EBERHART, S. A.; BRETTING, P.; VENCOSKY, R. Practical Considerations for Maintaining Germplasm in Maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, p. 89-95, 1994.
- IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br> > Acesso em: 30 out. 2004.
- INTERNATIONAL BOARD FOR PLANT GENETIC RESOURCES. **Descriptors for maize**. Rome, 1991. 88p.
- PARDEY, P. G.; KOO, B.; DUSEN, M. E. van; SKOVMAND, B.; TABA, S.; WRIGHT, B. D. Cimmyt Genebank In: KOO, B.; PARDEY, P. G.; WRIGHT, B. D. (Ed.) **Saving seeds: the economics of conserving crop genetic resources ex situ in future harvest centres of the CGIAR**. Cambridge: CABI, 2004. p. 21-47.
- PATERNIANI, E. Diversidade genética em plantas cultivadas. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1., 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP; Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1988. p. 75-77. Editado por Samira Miguel Campos de Araújo, Juan Ayala Osuna.
- PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O Valor dos Recursos Genéticos de Milho para o Brasil. In: UDRY, C. V.; DUARTE, W. (Org.). **Uma história das brasileiras do milho – o valor dos recursos genéticos**. Brasília, DF: Paralelo 15, 2000. p. 11-41.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária** São Paulo: Globo, 1989. 359 p.
- TABA, S.; SHANDS, H. L.; EBERHART, S. A. The Growth of CIMMYT's maize collection with the introduction of latin American maize landrace accessions through the cooperative regeneration project. In: WORKSHOP ON LATIN AMERICAN MAIZE GERMPLASM CONSERVATION: REGENERATION, IN SITU CONSERVATION, CORE SUBSETS, AND PREBREEDING, 2003, Mexico. **Proceedings...** México: CIMMYT, 2003. p. 1-8. Editado por Suketoshi Taba.

**Comunicado
Técnico, 113**

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Endereço: Rod. MG 424 Km 45 Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3779 1000

Fax: (31) 3779 1088

E-mail: sac@cnpmis.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2005): 200 exemplares

**Comitê de
publicações**

Presidente: Antônio Carlos de Oliveira

Secretário-Executivo: Paulo César Magalhães

Membros: Camilo de Lélis Teixeira de Andrade,

Cláudia Teixeira Guimarães, Carlos Roberto Casela,

José Carlos Cruz e Márcio Antônio Rezende Monteiro

Expediente

Supervisor editorial: Clenio Araujo

Revisão de texto: Dilermando Lúcio de Oliveira

Editoração eletrônica: Dilermando Lúcio de Oliveira